

云南产黄皮疣柄牛肝菌基本营养成分和抗氧化活性

刘秋鸣, 李笑, 肖俊江, 孙丽平*

(昆明理工大学云南省食品安全研究院, 云南昆明 650500)

摘要:对采集自云南省25个产地的29个黄皮疣柄牛肝菌(*Leccinum crocipodium*)样本的基本营养成分、多酚含量及其抗氧化活性进行了测定和分析。结果表明,菌体粗蛋白含量为24.54% DW~37.25% DW,粗脂肪含量为0.88% DW~3.78% DW,可溶性总糖含量为7.03% DW~19.03% DW,粗灰分含量为4.31% DW~7.07% DW;多酚含量丰富,为12.25 mg GAE/g DW~24.44 mg GAE/g DW;多酚粗提物表现出很好的DPPH·、ABTS⁺·清除活性、FRAP还原能力以及Fe²⁺螯合能力;总酚含量与ABTS⁺·清除活性和FRAP还原能力的显著正相关($p < 0.01$),表明黄皮疣柄牛肝菌粗多酚可能是其抗氧化活性的主要因素之一。云南产黄皮疣柄牛肝菌营养组成丰富,具有高蛋白低脂肪,粗多酚提取物抗氧化活性强的特点。

关键词:黄皮疣柄牛肝菌,基本营养成分,抗氧化活性,多酚

Nutritional Components and Antioxidant Activities of *Leccinum crocipodium* in Yunnan

LIU Qiu-ming, LI Xiao, XIAO Jun-jiang, SUN Li-ping*

(Yunnan Institute of Food Safety, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: In this paper, 29 samples of *Leccinum crocipodium* collected from 25 areas of Yunnan were assayed for their nutritional components, polyphenol content and their antioxidant activity. The results showed the protein content of *L. crocipodium* was from 24.54% DW to 37.25% DW, the fat content was from 0.88% DW to 3.78% DW, the content of polysaccharide was from 7.03% DW to 19.03% DW, and the content of crude ash was between 4.31% DW and 7.07% DW. The total phenol content (TPC) ranged from 12.25 mg GAE/g DW to 24.44 mg GAE/g DW. The antioxidant activities of polyphenol extract was studied by DPPH·-scavenging system, ABTS⁺·-scavenging system, ferric reducing antioxidant power (FRAP) method and metal chelating ability (MCA) method. The results showed that the crude polyphenol of *Leccinum crocipodium* had a good antioxidant activity. There was a significant positive correlation ($p < 0.01$) between total phenols and ABTS⁺·-scavenging activity and FRAP ability. The phenols in the extracts could be one of the main contributors to the antioxidant activity of *Leccinum crocipodium*. The results of this study showed that *Leccinum crocipodium* had high content of protein and low content of fat, and the antioxidant activity of crude polyphenol extract was strong.

Key words: *Leccinum crocipodium*; nutritional component; antioxidant activity; total phenol

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)16-0275-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.16.049

引文格式: 刘秋鸣, 李笑, 肖俊江, 等. 云南产黄皮疣柄牛肝菌基本营养成分和抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(16): 275-280.

黄皮疣柄牛肝菌(*Leccinellum crocipodium*), 又称黄癩头, 属真菌界(Fungi), 担子菌门(Basidiomycota), 伞菌纲(Agaricomycetes), 牛肝菌目(Boletales), 牛肝菌科(Boletaceae), 疣柄牛肝菌属(*Leccinellum*), 在松、落叶栎类林地上群生或单生, 属于外生菌根菌^[1]。在我国江苏、安徽、福建、贵州、台

湾等地均有分布, 在云南省, 常见于除西双版纳等热带地区之外的市场^[2]。

黄皮疣柄牛肝菌味道鲜美、营养丰富, 含蛋白质、总糖、脂肪、氨基酸等营养成分及多种矿物质^[3-4]。食用菌多酚被发现具有一定抗氧化活性^[5]。王婷婷等^[6]研究了黄皮疣柄牛肝菌、马勃菌、黑牛肝

收稿日期: 2017-11-27

作者简介: 刘秋鸣(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: kgqml2012@163.com。

* 通讯作者: 孙丽平(1981-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与安全控制, E-mail: kmlpsun@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(21767014)。

菌、鸡枞 4 种野生菌的多酚含量及活性,发现黄皮疣柄牛肝菌中多酚含量最高,抗氧化活性最好。刘雨阳等^[7]研究发现黄皮疣柄牛肝菌多酚提取物对 Caco-2 结肠癌细胞具有一定程度的抑制作用。

本研究采集了云南省主要产区 25 个位点的黄皮疣柄牛肝菌样本,测定了子实体的基本营养成分,分析了子实体多酚粗提取物中多酚含量与其 DPPH·清除能力、ABTS⁺·清除能力、铁离子还原能力和金属螯合能力的相关性,探讨了云南各产地的黄皮疣柄牛肝菌子实体的营养性与功能性。本研究采样范围广,研究结果具有一定代表性,能为消费者、食品制造商以及食品研究人员提供科学信息,为黄皮疣柄牛肝菌的综合利用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄皮疣柄牛肝菌 采集时间和地点如表 1 所示,样品采集当天带回实验室,削除表面不可食部分,先后用流动水和超纯水清洗,冷冻干燥,研磨粉碎,过 40 目绢筛,于棕色抽真空的干燥器中储存,待测;1,1-二苯-1-苦基苯肼自由基(DPPH·)、2,2-氨基-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)、Fe³⁺-三吡啶三吡嗪(TPTZ)、6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-羧酸(Trolox)、EDTA、Ferrozine(菲洛嗪) 美国 Sigma 公司;其它试剂 均为分析纯。

Alpha 1-2/LD 型冷冻干燥机 德国 CHRIST; DL-5-B 型低速大容量多管离心机、TGL-20B 型高速台式离心机 上海安亭科学仪器厂;UV-6100 型紫外可见分光光度计 上海美谱达仪器有限公司;SB5200D 型超声波清洗机 宁波新芝生物科技股份有限公司;HH-2 型恒温水浴锅 金坛市瑞尔电器有限公司;SX-4-10 型马弗炉 长沙市华光电炉厂;SZF-06A 型脂肪测定仪 上海新嘉电子有限公司;DHG9070A 型电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司。

表 1 样品采集地点和时间

Table 1 Collecting location and time of sample

编号	采集地点	采集时间	编号	采集地点	采集时间
1	曲靖花山	2015.6.12	16	红河开远	2015.6.17
2	曲靖花山	2015.7.12	17	文山砚山	2015.6.18
3	曲靖花山	2015.8.9	18	文山丘北	2015.6.19
4	曲靖花山	2015.8.23	19	楚雄武定	2015.7.11
5	曲靖花山	2016.6.28	20	楚雄南华	2015.6.23
6	曲靖沾益	2015.6.14	21	楚雄禄丰	2015.7.29
7	曲靖陆良	2015.7.12	22	普洱墨江	2015.7.22
8	昆明宜良	2015.7.7	23	普洱宁洱	2015.6.24
9	昆明东川	2015.7.10	24	普洱澜沧	2015.6.23
10	昆明寻甸	2015.7.10	25	普洱	2015.6.22
11	昆明禄劝	2015.7.11	26	玉溪峨山	2015.7.5
12	昆明嵩明	2015.7.9	27	玉溪通海	2015.7.14
13	昆明富民	2015.7.9	28	玉溪江川	2015.7.4
14	昆明石林	2015.7.7	29	昭通鲁甸	2015.7.16
15	红河建水	2015.7.20			

1.2 实验方法

1.2.1 基本营养成分测定 粗蛋白含量测定依据 GB 5009.5-2010,采用凯氏定氮法。粗脂肪含量测定依据 GB/T 5009.6-2003,采用索氏抽提法。粗灰分含量测定依据 GB 5009.4-2010,采用灼烧法。可溶性总糖含量测定采用苯酚硫酸法。以上结果均表达为%干重(DW)。

1.2.2 多酚提取 准确称取 1.0 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 15 mL 70% 甲醇,连续超声辅助提取 1 h,输出功率 200 W。5000 r/min 离心 10 min,收集上清液。向沉淀中加入 10 mL 70% 甲醇重复提取步骤,合并上清液,并用 70% 甲醇定容至 25 mL,得样品多酚粗提液,储存于 4 °C 待测。

1.2.3 多酚含量测定 采用 Folin-Ciocalteu 比色法^[8]测定多酚含量。标准曲线的绘制:准确吸取 0.5 mL 0、20、40、60、80、100 μg/mL 没食子酸的标准工作液于 10 mL 连盖离心管中,加 2.5 mL 10% 福林酚试剂,摇匀,静置 5 min,加 2.0 mL 7.5% 碳酸钠溶液,摇匀,室温下避光反应 60 min,于 765 nm 下测定吸光值,以吸光值和标准工作液浓度为坐标建立曲线。以 0.5 mL 多酚粗提液代替没食子酸标准工作液,按照上述方法测定吸光值,计算黄皮疣柄牛肝菌多酚含量,结果表达为 mg 没食子酸当量/g 干样(mg GAE/g DW)。

1.2.4 DPPH·清除能力测定 0.1 mmol/L DPPH·甲醇溶液配制:精确称取 DPPH 0.1972 g,溶于甲醇,定容至 500 mL,配制成 1 mmol/L DPPH 甲醇母液,取 DPPH 甲醇母液用甲醇稀释 10 倍即得 0.1 mmol/L DPPH·甲醇溶液。

DPPH·清除能力测定采用文献[9]的方法。取 0.4 mL 粗多酚提取液,加入 2 mL 0.1 mmol/L DPPH·甲醇溶液,混匀,室温避光反应 30 min,于 517 nm 下测定吸光值。Trolox 作阳性对照,以 20~100 μmol/L 浓度的 Trolox DPPH·清除能力做标准曲线。样品 DPPH·清除能力结果表示为 Trolox 当量(μmole TE/g DW)。

1.2.5 ABTS⁺·清除能力测定 ABTS⁺·清除能力参考文献[10]方法测定,稍作修改。取 5 mL 7 mmol/L 的 ABTS 溶液与 88 μL 过硫酸钾(40 mmol/L)的混合,于室温黑暗中放置 12 h,制备 ABTS⁺·储备液。该储备液用 70% 乙醇稀释至 734 nm 下吸光值为 0.70 ± 0.02,得 ABTS⁺·工作液。取 4 mL ABTS⁺·工作液与 0.5 mL 多酚粗提液混合,于 30 °C 水浴条件下反应 6 min,于 734 nm 下测定吸光值。70% 甲醇代替样品做空白对照。Trolox 作阳性对照,以 20~100 μmol/L 浓度的 Trolox ABTS⁺·清除能力做标准曲线。样品 ABTS⁺·清除能力测定结果表示为 Trolox 当量(μmole TE/g DW)。

1.2.6 铁离子还原能力(FRAP)测定 采用文献[11]的方法,稍作修改。标准曲线:将 0.3 mol/L 的醋酸缓冲液(pH3.6)、10 mmol/L TPTZ 和 20 mmol/L FeCl₃ 溶液按 10:1:1 的比例配制成 FRAP 工作液。取浓度 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mmol/L FeSO₄·7H₂O 溶液各 150 μL,分别加入 4.5 mL FRAP 试剂,混匀后

37 ℃水浴条件下反应 10 min, 测定 593 nm 处吸光值, 以 FeSO₄·7H₂O 浓度和吸光值绘制标准曲线。

样品测定: 4.5 mL FRAP 工作液与 150 μL 多酚粗提液混合, 混匀后 37 ℃水浴条件下反应 10 min, 于 593 nm 处测定吸光值。70% 甲醇代替样品做空白对照。样品铁离子还原能力 (FRAP 值) 以每 100 克干质量样品达到同样吸光度所需 FeSO₄ 毫摩尔数表示 (mmole Fe²⁺ E/100 g)。

1.2.7 金属螯合能力测定 Fe²⁺ 螯合能力测定参考文献[9]方法测定。1 mL 多酚粗提液与 3.7 mL 超纯水混合, 加入 100 μL 2 mmol/L FeCl₂, 混合 30 s, 再加入 200 μL 5 mmol/L 菲洛嗪, 混匀, 室温静置 10 min, 于 562 nm 处测定吸光值。70% 甲醇代替样品做空白对照。EDTA 做阳性对照, 以 0.034~0.171 mmol/L 的 EDTA Fe²⁺ 螯合能力做标准曲线。样品 Fe²⁺ 螯合能力测定结果表示为 EDTA 当量 (μmole EDTA E/g)。

1.3 数据统计

每个实验至少重复三次, 测定结果以均值 ± 标

准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。实验数据用 SPSS 17.0 软件 T 检验分析方法进行统计处理, 差异性显著水平为 $p < 0.05$; 进行实验数据相关性分析, $p < 0.05$ 为正相关, $p < 0.01$ 为显著正相关。

2 结果与分析

2.1 菌体基本成分和总酚含量

黄皮疣柄牛肝菌子实体的基本成分测定结果如表 2 所示。不同产地黄皮疣柄牛肝菌粗蛋白含量为 24.54% DW ± 0.33% DW~37.25% DW ± 0.71% DW, 29 号样品陆良的粗蛋白含量最高, 为 37.25% DW ± 0.71% DW, 29 个样本粗蛋白含量均值为 29.55%, 高于野生菌中美味牛肝菌、铜色牛肝菌和网柄牛肝菌以及常见栽培食用菌中的平菇、金针菇等^[12] 食用菌子实体的粗蛋白含量。食用菌的总糖含量是其营养和质量评价的重要指标之一, 包括水溶性多糖、寡糖和单糖。食用菌中的多糖具有比较复杂而全面的生理活性和功能^[13-14]。本研究中不同产地黄皮疣柄牛肝菌子实体的可溶性总糖含量为 7.03% DW ±

表 2 黄皮疣柄牛肝菌基本营养成分和总酚含量

Table 2 Proximate composition and polyphenols contents of *Leccinum crocipodium*

编号	粗蛋白 (%)	可溶性总糖 (%)	粗脂肪 (%)	灰分 (%)	总酚 (mg GAE/g DW)
1	26.20 ± 0.10 ^p	10.35 ± 0.01 ^{no}	2.74 ± 0.17 ^{efgh}	4.31 ± 0.02 ^l	13.42 ± 0.40 ^{hij}
2	27.38 ± 0.02 ^{mno}	13.5 ± 0.09 ^{fg}	2.58 ± 0.02 ^{efghi}	4.31 ± 0.04 ^l	14.16 ± 0.36 ^h
3	31.72 ± 0.07 ^{def}	7.03 ± 0.30 ^q	1.30 ± 0.16 ^{op}	6.56 ± 0.11 ^b	19.90 ± 0.78 ^c
4	25.17 ± 0.00 ^q	13.62 ± 0.46 ^{ef}	2.17 ± 0.18 ^{hijkl}	4.67 ± 0.19 ^k	15.51 ± 0.50 ^g
5	30.13 ± 0.68 ^{hi}	12.19 ± 0.01 ^{igk}	2.48 ± 0.28 ^{efghj}	5.34 ± 0.01 ^{fg}	14.07 ± 0.02 ^{hi}
6	28.64 ± 0.10 ^{jk}	14.86 ± 0.00 ^d	3.05 ± 0.13 ^{cde}	4.85 ± 0.21 ^{jk}	17.08 ± 0.55 ^f
7	28.73 ± 0.49 ^{jk}	11.09 ± 0.19 ^{lmn}	3.69 ± 0.15 ^b	5.29 ± 0.08 ^{efgh}	23.83 ± 0.06 ^a
8	26.28 ± 0.11 ^p	8.63 ± 0.30 ^p	1.93 ± 0.06 ^{klmn}	5.16 ± 0.09 ^{ghi}	24.44 ± 0.72 ^a
9	32.48 ± 0.18 ^c	14.98 ± 0.22 ^d	3.58 ± 0.04 ^{bc}	5.45 ± 0.13 ^{def}	18.12 ± 0.57 ^{de}
10	27.70 ± 0.35 ^{lmn}	14.89 ± 0.04 ^d	2.41 ± 0.09 ^{efghijk}	5.74 ± 0.08 ^{cd}	21.12 ± 0.30 ^b
11	28.90 ± 0.22 ^j	16.97 ± 0.23 ^c	3.42 ± 0.73 ^b	5.66 ± 0.10 ^{cde}	13.04 ± 0.65 ^{ijk}
12	32.44 ± 0.71 ^{cd}	11.18 ± 0.16 ^{lmn}	2.76 ± 0.11 ^{efg}	5.49 ± 0.04 ^{def}	18.31 ± 0.03 ^{de}
13	33.53 ± 0.35 ^b	15.00 ± 0.13 ^d	3.51 ± 0.08 ^{bc}	5.93 ± 0.06 ^c	13.15 ± 0.70 ^{hijk}
14	29.61 ± 0.3 ⁱ	12.71 ± 0.44 ^{ghi}	3.65 ± 0.57 ^b	5.51 ± 0.03 ^{def}	19.72 ± 0.03 ^c
15	28.35 ± 0.29 ^{ijkl}	7.31 ± 0.58 ^q	2.20 ± 0.40 ^{ghijkl}	5.64 ± 0.13 ^{cde}	20.11 ± 0.03 ^{bc}
16	27.23 ± 0.21 ^{no}	15.20 ± 0.39 ^d	1.85 ± 0.12 ^{klmn}	5.70 ± 0.01 ^{cd}	17.52 ± 0.47 ^{ef}
17	24.54 ± 0.33 ^q	13.13 ± 0.69 ^{gh}	3.37 ± 0.28 ^{bcd}	5.06 ± 0.09 ^{hij}	20.27 ± 0.14 ^{bc}
18	31.06 ± 0.11 ^{fg}	12.47 ± 0.34 ^{hig}	3.47 ± 0.16 ^{bed}	5.65 ± 0.02 ^{cde}	13.96 ± 0.02 ^{hi}
19	26.84 ± 0.28 ^{op}	16.75 ± 0.53 ^{bc}	3.78 ± 0.03 ^a	5.93 ± 0.00 ^c	13.60 ± 0.54 ^{hij}
20	31.95 ± 0.11 ^{cde}	19.03 ± 0.03 ^a	2.41 ± 0.11 ^{efghijk}	4.95 ± 0.18 ^{ij}	18.73 ± 0.67 ^d
21	30.97 ± 0.36 ^g	14.42 ± 0.06 ^{de}	2.95 ± 0.52 ^{def}	5.76 ± 0.04 ^c	12.25 ± 0.67 ^k
22	31.48 ± 0.06 ^{efg}	10.69 ± 0.27 ^{mno}	1.59 ± 0.06 ^{mno}	5.64 ± 0.02 ^{cde}	16.05 ± 0.40 ^g
23	28.01 ± 0.38 ^{klm}	11.41 ± 0.28 ^{klm}	0.88 ± 0.37 ^p	5.46 ± 0.33 ^{def}	13.25 ± 0.16 ^{hijk}
24	26.13 ± 0.24 ^p	17.47 ± 0.39 ^b	3.76 ± 0.31 ^b	5.03 ± 0.04 ^{hij}	12.73 ± 0.40 ^{ij}
25	29.89 ± 0.51 ⁱ	14.43 ± 0.94 ^{de}	2.58 ± 0.46 ^{efghi}	5.67 ± 0.19 ^{cd}	16.00 ± 0.69 ^g
26	29.75 ± 0.10 ⁱ	11.29 ± 0.10 ^{lm}	1.67 ± 0.27 ^{lmno}	4.78 ± 0.00 ^{jk}	23.61 ± 0.69 ^a
27	33.88 ± 0.17 ^b	12.80 ± 0.04 ^{fghi}	2.07 ± 0.27 ^{ijklm}	5.55 ± 0.09 ^{def}	20.08 ± 0.42 ^{bc}
28	30.78 ± 0.30 ^{gh}	11.74 ± 0.02 ^{gkl}	1.51 ± 0.04 ^{no}	5.36 ± 0.29 ^{efg}	13.97 ± 0.38 ^{hi}
29	37.25 ± 0.71 ^a	9.99 ± 0.01 ^o	3.35 ± 0.01 ^{bcd}	7.07 ± 0.04 ^a	13.91 ± 0.36 ^{hi}
平均值	29.55	12.94	2.64	5.43	16.96

注: 同一列不同字母代表数据有显著性差异 ($p < 0.05$), 相同字母表示无显著性差异 ($p > 0.05$); 表 3 同。

0.30% DW~19.03% DW \pm 0.03% DW, 低于一些常见食用菌^[15] 香菇 (32.4%)、平菇 (22.25%)、金针菇 (47.89%) 等。粗脂肪含量相对较低的 5 个样本为宁洱 (0.88% DW \pm 0.37% DW)、花山 3 (1.30% DW \pm 0.16% DW)、江川 (1.51% DW \pm 0.04% DW)、墨江 (1.59% DW \pm 0.06% DW) 和峨山 (1.67% DW \pm 0.27% DW), 其它 24 个样本中脂肪含量为 1.85% DW \pm 0.12% DW ~ 3.78% \pm 0.03% DW, 均值为 2.83%, 与梅文泉等^[3] 测定黄皮疣柄牛肝菌营养成分分析比较, 脂肪含量略高。不同产地黄皮疣柄牛肝菌粗灰分含量 4.31% DW \pm 0.02% DW ~ 7.07% DW \pm 0.04% DW, 低于 Barros 等^[16] 测定的几种食用菌 (7.07%~16.48%)。从表 2 可以看出, 不同产地和采集时间的黄皮疣柄牛肝菌子实体的基本营养成分含量存在显著性差异 ($p < 0.05$), 这可能是因为生长环境的不同, 采集时间的差异, 但总体上有高蛋白低脂肪、含有一定量可溶性总糖的特点。

真菌类食物可提供给人体具有多重生物活性的多酚类物质, 多酚类物质具有活泼的多羟基结构, 从而具有较强的供电子能力, 使其成为有效的抗氧化活性成分^[17]。本研究提取黄皮疣柄牛肝菌总酚并测定其含量, 结果如表 2 所示, 不同产地黄皮疣柄牛肝菌总酚含量为 (12.25 \pm 0.67) ~ (24.44 \pm 0.72) mg GAE/g DW, 相对较高的 6 个样本为宜良 (24.44 \pm 0.72) mg GAE/g DW、陆良 (23.83 \pm 0.06) mg GAE/g DW、峨山 (23.61 \pm 0.69) mg GAE/g DW、砚山 (20.27 \pm 0.14) mg GAE/g DW、建水 (20.11 \pm 0.03) mg GAE/g DW 和通海 (20.08 \pm 0.42) mg GAE/g DW, 最低为禄丰 (12.25 \pm 0.67) mg GAE/g DW。本研究黄皮疣柄牛肝菌总酚含量略高于侯文井等^[18] 报道的美味牛肝菌、元蘑、榛蘑和黑木耳中总酚含量, 说明黄皮疣柄牛肝菌是一种多酚含量丰富的野生食用菌。

2.2 粗多酚提取物的抗氧化性分析

DPPH·清除能力被广泛用于评价多酚的抗氧化能力以及天然抗氧化剂的筛选。如表 3 所示, 不同产地黄皮疣柄牛肝菌多酚粗提取物都具有一定 DPPH·清除能力。普洱 (2.38 \pm 0.03) μ mole TE/g、宜良 (2.56 \pm 0.02) μ mole TE/g、宁洱 (2.58 \pm 0.01) μ mole TE/g 3 个样本的 DPPH·清除能力相对较低, 其均值为 2.51 μ mole TE/g。其它 26 个样本的 DPPH·清除能力为 (2.77 \pm 0.07) ~ (3.39 \pm 0.01) μ mole TE/g, 均值为 3.20 μ mole TE/g, 高出相对较低的 3 个样本均值 (2.51 μ mole TE/g) 的 127%。抗氧化剂对 DPPH 自由基的清除作用是由于其供氢能力, 蘑菇提取物的抗氧化活性可能是多酚类物质中的羟基作用, 蘑菇粗多酚可能是天然抗氧化剂的潜在来源。

ABTS 不仅是亲水型化合物还是亲脂型化合物, 比较容易反应。ABTS⁺·的清除是电子转移过程, 体系中的抗氧化剂与其反应将会使溶液褪色, 表现为吸光值的降低^[19], 从而反映出试样抗氧化能力的大小。不同产地黄皮疣柄牛肝菌多酚粗提取物都具有很好的 ABTS⁺·清除能力, 且存在显著性差异 ($p < 0.05$)。ABTS⁺·清除能力范围为 (1.85 \pm 0.01) ~ (3.00

\pm 0.05) μ mole TE/g, 相对较高的 5 个样本为花山 4 (3.00 \pm 0.05) μ mole TE/g、东川 (2.97 \pm 0.01) μ mole TE/g、花山 2 (2.83 \pm 0.02) μ mole TE/g、开远 (2.77 \pm 0.01) μ mole TE/g 和丘北 (2.76 \pm 0.01) μ mole TE/g, 均值为 2.87 μ mole TE/g, 高出其它剩余 24 个地区均值 (2.31 μ mole TE/g) 的 124%。

FRAP 还原能力为抗氧化剂将 Fe³⁺ 还原为 Fe²⁺, Fe²⁺ 与 TPTZ 结合生成蓝色络合物, 该络合物在波长 593 nm 处有最大吸收。吸光度越大, 表明抗氧化剂的还原能力越强, 也就是有更高的抗氧化活性^[20]。不同样本黄皮疣柄牛肝菌多酚粗提取物均表现较高的 FRAP 还原能力, 相对较高的 3 个样本为峨山、寻甸、花山 4, 其 FRAP 值分别 (1.74 \pm 0.03)、(1.60 \pm 0.02)、(1.46 \pm 0.02) mmole Fe²⁺ E/100 g, 均值为 1.6 mmole Fe²⁺ E/100 g, 相对较低的 4 个地区为宁洱 (0.74 \pm 0.01 mmole Fe²⁺ E/100 g)、石林 (0.85 \pm 0.02 mmole Fe²⁺ E/100 g)、沾益 (0.90 \pm 0.00 mmole Fe²⁺ E/100 g) 和嵩明 (0.95 \pm 0.03 mmole Fe²⁺ E/100 g)。其它 22 个地区的 FRAP 还原能力为 0.97 ~ 1.36 mmole Fe²⁺ E/100 g, 均值为 1.06 mmole Fe²⁺ E/100 g。FRAP 还原能力相对较高的前 3 个地区的均值高出其它剩余 22 个地区均值的 151%。

Ozgen 等^[21] 研究认为 DPPH、ABTS 和 FRAP 抗氧化评价模型简单、稳定、极易操作, 反应机制上, DPPH、ABTS 和 FRAP 均评价了抗氧化物质的单电子转移能力, 但是其反应体系极性不同, 为了综合评价天然抗氧化物的抗氧化活性, 需要多模型的抗氧化评价体系, DPPH、ABTS 和 FRAP 三个体系的联合应用是合适的。

适量的铁对于细胞功能有重要作用, 例如氧运输、细胞呼吸和许多铁金属酶的辅因子, 而过量的游离铁会导致 Fenton 反应产生活性氧物质^[22], 因此金属离子螯合可以一定程度上降低金属离子的催化作用, 避免自由基的生成, 这也是一种评价试样抗氧化性能常用的方法。不同样本黄皮疣柄牛肝菌多酚粗提取物具有很好的 Fe²⁺ 螯合能力, 且存在一定的显著性差异 ($p < 0.05$), 相对较高的为禄丰 (3.29 \pm 0.03) μ mole EDTA E/g、花山 3 (3.27 \pm 0.03) μ mole EDTA E/g、江川 (3.06 \pm 0.01) μ mole EDTA E/g、峨山 (3.04 \pm 0.00) μ mole EDTA E/g、丘北 (3.03 \pm 0.03) μ mole EDTA E/g, 这 5 个地区 Fe²⁺ 螯合能力均值为 3.14 μ mole EDTA E/g, 高出其它剩余 22 个地区均值 (2.25 μ mole EDTA E/g) 的 140%。

2.3 抗氧化活性与总酚含量相关性分析

DPPH·清除能力、ABTS⁺·清除能力是基于分光光度法, 通过测定样品清除自由基的能力来表征其抗氧化能力。FRAP 法反映的是样品还原 Fe³⁺ 的能力, MCA 法则测定样品螯合 Fe²⁺ 的能力。植物抗氧化能力与其多酚、黄酮类、V_C、V_E 和类胡萝卜素等物质含量有一定的相关性^[23]。不同评价体系下黄皮疣柄牛肝菌抗氧化活性与总酚含量相关性分析如表 4 所示。总酚含量 (TPC) 与 ABTS⁺·清除活性和 FRAP 还原能力在 0.01 水平下显著正相关, 相关系数分别

表3 黄皮疣柄牛肝菌粗多酚提取物的抗氧化能力和金属螯合能力
Table 3 Antioxidant activities and metal chelating ability of *Leccinum crocipodium*

编号	DPPH·(μmole TE/g)	ABTS ⁺ ·(μmole TE/g)	FRAP(mmmole Fe ²⁺ E/100 g)	MCA(μmole EDTA E/g)
1	3.30 ± 0.01 ^{de}	2.19 ± 0.01 ^m	1.36 ± 0.03 ^d	2.53 ± 0.06 ^{ghij}
2	3.25 ± 0.02 ^{fg}	2.83 ± 0.02 ^b	1.18 ± 0.02 ^h	2.40 ± 0.02 ^{ghijk}
3	2.86 ± 0.02 ^l	2.52 ± 0.04 ^{fgh}	1.09 ± 0.01 ^{ijkl}	3.27 ± 0.03 ^a
4	3.38 ± 0.01 ^a	3.00 ± 0.05 ^a	1.46 ± 0.02 ^c	1.92 ± 0.01 ^{mn}
5	2.84 ± 0.02 ^l	2.37 ± 0.01 ^{ijkl}	1.22 ± 0.04 ^{fgh}	2.35 ± 0.02 ^{hijk}
6	3.25 ± 0.01 ^{fg}	2.07 ± 0.08 ⁿ	0.90 ± 0.00 ^s	2.89 ± 0.01 ^{bcde}
7	3.30 ± 0.00 ^{de}	2.35 ± 0.06 ^{kl}	1.23 ± 0.02 ^{efg}	1.96 ± 0.01 ^{lmn}
8	2.56 ± 0.02 ⁿ	2.14 ± 0.03 ^{mn}	1.19 ± 0.02 ^h	2.20 ± 0.03 ^{ijklm}
9	3.15 ± 0.03 ⁱ	2.97 ± 0.01 ^a	1.08 ± 0.01 ^{ijkl}	2.92 ± 0.01 ^{bcd}
10	3.20 ± 0.00 ^h	2.60 ± 0.01 ^{ef}	1.60 ± 0.02 ^b	2.93 ± 0.02 ^{bcd}
11	3.29 ± 0.00 ^{de}	2.47 ± 0.00 ^{ghi}	1.01 ± 0.01 ^{op}	2.32 ± 0.00 ^{hijk}
12	3.05 ± 0.00 ^j	2.30 ± 0.01 ^l	0.95 ± 0.03 ^r	2.14 ± 0.02 ^{klm}
13	3.26 ± 0.00 ^{efg}	1.89 ± 0.19 ^{op}	1.08 ± 0.01 ^{ijkl}	2.69 ± 0.03 ^{cdefg}
14	2.77 ± 0.07 ^m	2.33 ± 0.00 ^{kl}	0.85 ± 0.02 ^t	2.45 ± 0.03 ^{ghijk}
15	3.37 ± 0.01 ^{ab}	2.45 ± 0.05 ^{hij}	1.10 ± 0.02 ^{jk}	2.45 ± 0.02 ^{ghijk}
16	3.39 ± 0.01 ^a	2.77 ± 0.01 ^{bc}	1.23 ± 0.01 ^{ef}	2.58 ± 0.01 ^{efghi}
17	3.12 ± 0.04 ⁱ	2.41 ± 0.06 ^{ijk}	0.99 ± 0.02 ^{pq}	2.84 ± 0.06 ^{bcdef}
18	3.30 ± 0.01 ^{de}	2.76 ± 0.01 ^{bc}	1.09 ± 0.02 ^{ijkl}	3.03 ± 0.03 ^{ab}
19	3.22 ± 0.02 ^{gh}	1.93 ± 0.02 ^{op}	1.03 ± 0.01 ^{no}	2.64 ± 0.01 ^{defgh}
20	3.34 ± 0.00 ^{bc}	2.66 ± 0.02 ^{de}	1.15 ± 0.00 ⁱ	2.27 ± 0.00 ^{ijkl}
21	3.01 ± 0.02 ^k	1.87 ± 0.01 ^p	1.07 ± 0.00 ^{lm}	3.29 ± 0.03 ^a
22	3.32 ± 0.00 ^{cd}	2.53 ± 0.05 ^{fgh}	1.26 ± 0.03 ^e	0.88 ± 0.01 ^o
23	2.58 ± 0.01 ⁿ	2.33 ± 0.00 ^{kl}	0.74 ± 0.01 ^u	2.25 ± 0.02 ^{ijkl}
24	3.26 ± 0.00 ^{efg}	1.85 ± 0.01 ^p	1.12 ± 0.01 ^{ij}	1.53 ± 0.01 ⁿ
25	2.38 ± 0.03 ^o	1.97 ± 0.06 ^o	1.05 ± 0.001 ^{mn}	2.91 ± 0.01 ^{ghijk}
26	3.33 ± 0.00 ^{cd}	2.55 ± 0.03 ^{fg}	1.74 ± 0.03 ^a	3.04 ± 0.00 ^{abc}
27	3.21 ± 0.02 ^h	2.54 ± 0.04 ^{fg}	0.97 ± 0.02 ^{qr}	2.83 ± 0.01 ^{bcdef}
28	3.28 ± 0.00 ^{ef}	2.53 ± 0.04 ^{fgh}	1.19 ± 0.02 ^{gh}	3.06 ± 0.01 ^{ab}
29	3.27 ± 0.01 ^{ef}	2.70 ± 0.00 ^{cd}	1.04 ± 0.01 ^{mno}	2.93 ± 0.03 ^{bcd}

表4 抗氧化活性与总酚含量相关性
Table 4 Correlation between antioxidant activity and total phenol content

		TPC	DPPH	FRAP	ABTS	MCA
TPC	相关系数	1				
	p 值					
DPPH	样本量	87				
	相关系数	-0.95	1			
FRAP	p 值	0.383				
	样本量	87	87			
ABTS	相关系数	0.287 **	0.372 **	1		
	p 值	0.007	0.000			
MCA	样本量	87	87	87		
	相关系数	0.275 **	0.370 **	0.263 *	1	
	p 值	0.010	0.000	0.014		
	样本量	87	87	87	87	
	相关系数	0.183	-0.124	0.061	0.015	1
	p 值	0.090	0.253	0.572	0.891	
	样本量	87	87	87	87	87

注: * 表示在 0.05 水平下显著; ** 表示在 0.01 水平下极显著。

为 0.275 和 0.287。表明,在 ABTS⁺·清除活性和 FRAP 还原能力两种抗氧化评价体系下,酚类化合物可能是黄皮疣柄牛肝菌表现抗氧化能力的重要因素之一。酚类化合物,如类黄酮、酚酸和缩合单宁通常被认为是植物抗氧化能力的主要贡献者^[22]。同时,不同评价体系之间的相关性分析表明,DPPH·清除能力与 FRAP 还原能力和 ABTS⁺·清除能力在 0.01 水平下显著正相关,相关系数为 0.372 和 0.370。在 0.05 水平下,FRAP 还原能力和 ABTS⁺·清除能力成正相关,相关系数为 0.263。不同评价体系之间的显著相关性表明,抗氧化测定方法是可靠的。不同的抗氧化反应体系适用于不同的氧化应激反应。因此,在测定物质抗氧化能力时,可以根据需要采用多种方法来综合评价其抗氧化活性。

3 结论

本文初步探讨了云南主要产区 25 个位点黄皮疣柄牛肝菌的基本营养成分和抗氧化活性。研究发现黄皮疣柄牛肝菌具有高蛋白低脂肪、富含多酚的特点。菌体多酚粗提物对 DPPH·、ABTS⁺·具有很好的清除能力,对 Fe³⁺具有良好的还原能力,且具有很好的 Fe²⁺螯合能力。酚类化合物与抗氧化活性相关性分析表明其可能是黄皮疣柄牛肝菌抗氧化活性的重要因素之一。云南产黄皮疣柄牛肝菌不仅基本营养成分丰富,是良好的膳食来源,而且抗氧化活性较好。本研究向消费者、营养学家和食品研究人员提供了关于黄皮疣柄牛肝菌体外抗氧化活性的新信息,为野生食用牛肝菌的资源利用提供了基础数据。

参考文献

- [1] 袁明生. 中国大型真菌彩色图谱[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2013.
- [2] 袁明生, 孙佩琼. 中国蕈菌原色图集[M]. 成都: 四川科技出版社, 2007.
- [3] 梅文泉, 董宝生, 和丽忠, 等. 黄皮疣柄牛肝菌营养成分分析[J]. 中国食用菌, 2005, 24(1): 25-26.
- [4] 罗晓莉, 李建英, 张沙沙, 等. 云南三种特色野生食用菌营养成分分析与评价[J]. 食品工业, 2017(5): 277-280.
- [5] Cheung L M, Cheung P C K, Ooi V E C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts [J]. Food Chemistry, 2003, 81(2): 249-255.
- [6] 王婷婷, 游金坤, 严明, 等. 4 种野生菌多酚的体外抗氧化活性[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(9): 148-152.
- [7] 刘雨阳, 侯玉艳, 吴素蕊, 等. 黄皮疣柄牛肝菌多酚提取及对 Caco-2 结肠癌细胞抑制作用研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(4): 278-282.
- [8] Moreira L, Dias L G, Pereira J A, et al. Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal [J]. Food & Chemical Toxicology, 2008, 46(11): 3482-3485.
- [9] Sun L, Bao C, Chang W, et al. Preparation, characterisation, antioxidant and antiglycation activities of the novel polysaccharides from the pileus of *Dictyophora rubrovolvata* [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2017, 52(1): 161-170.
- [10] Sun L, Chang W, Ma Q, et al. Purification of antioxidant peptides by hHighresolution mass spectrometry from simulated gastrointestinal digestion hydrolysates of Alaska Pollock (*Theragra chalcogramma*) skin collagen [J]. Marine Drugs, 2016, 14(10): 186-199.
- [11] 张燕新. 云南三种蜂花粉多酚的制备及抑制黑色素瘤 B16 细胞生物活性研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2016.
- [12] Heleno S A, Barros L, Sousa M J, et al. Targeted metabolites analysis in wild *Boletus* species [J]. LWT - Food Science and Technology, 2011, 44(6): 1343-1348.
- [13] Chen H, Ju Y, Li J, et al. Antioxidant activities of polysaccharides from *Lentinus edodes* and their significance for disease prevention [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50(1): 214-218.
- [14] 郭永月, 陶明焯, 程光宇, 等. 黑牛肝菌多糖对急性酒精肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中国食品学报, 2016, 16(1): 35-41.
- [15] 况丹. 七种食用菌营养成分分析比较[J]. 食用菌, 2011(4): 57-59.
- [16] Barros L, Cruz T, Baptista P, et al. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(8): 2742-2747.
- [17] Islam T, Yu X, Xu B. Phenolic profiles, antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in China [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 72: 423-431.
- [18] 侯文井, 王露露, 粟铭鸿, 等. 4 种长白山区食用菌多酚类物质的体外抗氧化活性[J]. 食品工业, 2017(1): 18-22.
- [19] Gülçin I. Antioxidant activity of L-adrenaline: a structure-activity insight [J]. Chemico - Biological Interactions, 2009, 179(2-3): 71-80.
- [20] Yesiloglu Y, Aydin H, Kilic I. *In vitro* antioxidant activity of various extracts of ginger (*Zingiber officinale* L.) seed [J]. Asian Journal of Chemistry, 2013, 25(7): 3573-3578.
- [21] Ozgen M, Reese R N, Tulio J A Z, et al. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(4): 1151-1157.
- [22] Islam T, Yu X, Xu B. Phenolic profiles, antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in China [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 72: 423-431.
- [23] Huxley R R, Neil H A W. The relation between dietary flavonol intake and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2003, 57(8): 904-908.